

АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ РАДИОБИОЛОГИИ

УДК 577.158:577 175.82:616.89-008.441.13

ВИНИЦКАЯ Алина Георгиевна

**АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ И ФЕРМЕНТЫ
МЕТАБОЛИЗМА ГАМК В МОЗГЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ
НЕКОТОРЫХ НЕЙРОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ**

03.00 04 - Биохимия

**Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Минск - 1994

Работа выполнена в Институте биохимии АН Беларуси и Гродненском государственном медицинском институте МЗ Республики Беларусь

Научные руководители:

академик **ОСТРОВСКИЙ Ю.М.**

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
КАНУННИКОВА Н.П.

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук **ЧЕШЕВИК А.Б.**

доктор биологических наук **МИЛЮТИН А.А.**

Оппонирующая организация:

Минский государственный медицинский институт

Защита состоится _____ часов на заседании
совета по защите диссертаций Д 006.30.01 в Институте радиобиологии
АН Беларуси, г. Минск, ул. Жодинская, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института радиобиологии
АН Беларуси.

Автореферат разослан * _____ 1995 г.

Ученый секретарь
совета по защите
диссертаций Д 006.30.01,
кандидат биологических наук



А.М.Ходосовская

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ. В настоящее время весьма убедительно показана ведущая роль нейромедиаторных систем ЦНС в развитии алкогольной интоксикации, толерантности и формирования патологической зависимости в ходе развития алкоголизма (Сытинский И.А., 1972; Kulonen K., 1983; Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н., 1985; Островский Ю.М. и соавт., 1988; Kuriyama K. et al., 1990). Полагают, что снотворное и противосудорожное действие этанола осуществляются при непосредственном участии тормозной ГАМК-ергической системы мозга (Буров Ю.В., Ведерникова Н.Н., 1985; Hunt W.A., 1983; Ticku M.K., Kulkarni S.K., 1988). Структурами мозга, принимающими участие в вызванных этанолом нарушениях двигательной активности, могут быть базальные ганглии, ретикулярная формация ствола мозга, мозжечок и другие звенья двигательной системы мозга, в которых обнаружена большая концентрация и интенсивный обмен ГАМК* (Kilianmaa K., 1980; Kuriyama K. et al., 1990).

Существуют данные о способности алкоголя оказывать воздействие на уровне всех узлов ГАМК-ергической системы, включая ГАМК/бензодиазепиновый рецепторный комплекс :: ферменты обмена ГАМК (Сытинский И.А., 1980; Tewari S., Sytinsky I.A., 1983; Kulonen E., 1983; Kuriyama K. et al., 1990). Последнее направление особенно интересно в связи с предполагаемой функцией минорного шунта ГАМК как дополнительного поставщика субстратов в ЦТК при алкогольной интоксикации и некоторых других экстремальных состояниях, сопровождающихся ослаблением энергетического обмена в мозге (Островский Ю.М. и соавт., 1988; Розанов В.А., 1989).

Практически не изучена роль нарушений обмена ГАМК в нейрохимических механизмах формирования толерантности и зависимости от этанола, хотя во многих экспериментальных моделях вызывания зависимости и формирования абстинентного синдрома у животных рядом авторов наблюдались разнообразные изменения от ельных показателей обмена ГАМК и параметров ее рецепции в мозге животных

* - условные сокращения, используемые в тексте: ГАМК - γ -аминомасляная кислота; ГАМК-Т- ГАМК-аминотрансфераза; ЯПА -янтарный полукальцийид; ЯПА-ДГ- ЯПА-дегидрогеназа; ВПН -вальпроат натрия; ЭА-этаноламин; фосфоЭА-фосфоэтаноламин; iBL - γ -бутиролактон.

(Шевченко Н.В., 1988; Ollat H., 1988; Kuriyama K. et al., 1990).

Эти данные обусловили широкое применение в клинике различных препаратов, способных вывеваться в механизмы ГАМК-ергической передачи и купировать некоторые психофармакологические эффекты этанола. Однако молекулярные механизмы взаимоотношений ГАМК-ергических соединений с этанолом и их влияние на ГАМК-систему мозга до сих пор изучены недостаточно, что затрудняет поиск новых эффективных средств коррекции нарушений, вызываемых алкоголем.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ: Целью настоящей работы явился анализ активности ферментов окислительной деградации ГАМК - ГАМК-аминотрансферазы и дегидрогеназы янтарного полуальдегида в структурах мозга крыс при алкогольной интоксикации и модификации поведенческих эффектов этанола некоторыми препаратами, вмешивающимися в метаболизм ГАМК.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ:

- изучение активности ГАМК-Т* и ЯПА-ДГ* в структурах мозга крыс при острой и хронической алкогольной интоксикации, а также отмене этанола;
- изучение активности ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в ткани головного мозга при действии *in vitro* вальпроата натрия, этаноламина и фосфоэтанолamina;
- исследование активности ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в структурах мозга при действии *in vivo* вальпроата натрия, этаноламина, фосфоэтанолamina, гамма-бутиролактона, глутамина;
- изучение катаболизма ГАМК при коррекции эффектов этанола посредством введения вальпроата натрия, этаноламин, фосфоэтанолamin, гамма-бутиролактон и глутамин;
- изучение вклада ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в структурах мозга в развитии толерантности к наркотическому действию этанола.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА РАБОТЫ:

Установлено, что этанол оказывает ингибирующее действие при однократном введении наркотической дозы преимущественно на активность ЯПА-ДГ и менее выражено - на активность ГАМК-Т.

Приведены новые данные о способности ЭА* и фосфоЭА* вмешиваться в метаболизм ГАМК в структурах мозга крыс посредством ингибирования ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в больших полушариях, стволе и

мозжечке. Отмечена способность **фосфо3А (230 мг/кг)** устранять снотворное действие этанола.

Показано, что **ВПН***, **Эй** и **фосфо3А** при в/бр введении способны **уменьшению** влияния острой алкогольной интоксикации на ГАМК-Т и ЯПА-ДГ во **всех** структурах **мозга**, что может быть причиной устранения вызванных этанолом **нарушений** двигательной активности. **ГБЛ*** при совместном введении с этанолом нормализует катаболизм **ГАМК** только в больших полушариях и **мозжечке**.

Впервые **установлено**, что многократное (в течение 10 дней) введение этанола приводит к **сокращению** продолжительности этанолового сна у крыс и пропорциональному уменьшению изменений активности ферментов деградации ГАМК по мере увеличения числа инъекций этанола. **Это** указывает на участие ГАМК-ергической системы мозга в развитии толерантности к снотворным эффектам алкоголя.

Показано, что изученные нами препараты: **ВПН, 3А, фосфо3А, ГБЛ** и **глутамин** успешно устраняют симптомы состояния отмена этанола у хронически алкоголизированных животных и способствуют (**особенно ВПН, 3А и фосфо3А**) уменьшению изменений нарушений **активности** ферментов метаболизма ГАМК в мозге, возникших вследствие хронического потребления этанола.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ РАБОТЫ:

Данные об изменениях в **обмене** ГАМК при различных типах алкогольной интоксикации и коррекции поведенческих эффектов этанола некоторыми **нейроактивными** препаратами могут иметь важное значение для практической медицины при разработке методов лечения **алкогольной** интоксикации и абстинентных состояний **с соедине-** ниями, оказывающими воздействие на ГАМК-систему мозга, и будут способствовать поиску новых средств и обоснованию применения известных препаратов для лечения алкогольной патологии.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Развитие алкоголизма от острой интоксикации до формирования физической зависимости от алкоголя **сопровождается** изменениями в работе **ГАМК-метаболизирующих ферментов**, которые углубляются по мере все **большее**го потребления этанола.

2. Изучение катаболизма ГАМК в структурах мозга **крыс** при алкогольной интоксикации свидетельствует об участии ГАМК-ергической системы в индуцированных этанолом нарушениях двигатель-

ной активности.

3. Препараты, влияющие на окислительную деградацию ГАМК. способны устранять действие этанола на ферменты катаболизма ГАМК и купировать поведенческие нарушения, вызванные алкогольной интоксикацией.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ:

Результаты исследований были представлены на VII Областной конференции молодых ученых и специалистов, (Гродно, 1991); VIII Областной конференции молодых ученых и специалистов (Гродно, 1993.); Международной научной конференции, посвященной 35-л. открытия ГМИ (Гродно, 1993); V Международном Конгрессе биологической психиатрии (Флоренция, 1991); на III Конгрессе ESBRA (Осло, 1991); IV Конгрессе ESBRA (Генуя, 1993); на VI Конгрессе ECNP (Будапешт, 1993), VII Конгрессе ISBRA (Australia, 1994).

ПУБЛИКАЦИИ: По теме диссертации опубликовано 14 работ.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА РАБОТЫ: Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, изложения полученных результатов, их обсуждения, заключения, списка литературы, включающего 298 наименований. Работа изложена на 126 страницах, содержит 7 таблиц и 9 рисунков.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводились на белых беспородных крысах - самцах и самках массой 100-200 г. содержавшихся на стандартном рационе вивария. Всего в эксперименте использовано 474 крысы.

В опытах с острой алкогольной интоксикацией крысам вводили **внутрибрюшинно** (в/бр) этанол (3,5 г/кг массы, 252 р-р) с декапитацией животных через 30 и 45 мин после инъекции. ВПН вводили в дозе 400 **мг/кг (в/бр, 30 мин)**, оптимальной для устранения наркотического действия этанола и коррекции синдрома отмены этанола у крыс (Noble E. P. et al. 1976; Abbondanza A., Cessi C., 1978). В опытах *in vitro* использовали дозы ВПН 1,5.10 **мМ**. ЗА вводили в дозе 100 мг/кг (в/бр, 30 мин), которой достаточно для уменьшения проявлений острой алкогольной интоксикации (Krstak M. et al. 1971). ЗА *in vitro* использовали в концентрациях 1, 5 и 10 **мМ**. ФосфоЗА вводили крысам в эквивалентной ЗА дозе (230 мг/кг). *In*

В

за 30 и 45 мин до декапитации. Все препараты вводили в/бр. за исключением **глутамина**, который давали с питьем в течение 12 ч. до забоя в виде **0,75%** раствора.

Изучение активности **ГАМК-Т** (НФ 2.6.1.19) и **ЯПА-ДГ** (НФ 1.2.1.24) проводили в четырех структурах мозга крыс: в **больших полушариях, стволе, мозжечке и базальных ганглиях**. Деление мозга на структуры осуществляли по методике **Glowinsky J., Iversen 1.1. (1966)**. Животных декапитировали и быстро извлекали мозг. Деление на структуры проводили при **0-4°C**. Навески ткани гомогенизировали **гомогенизатором с тефлоновым пестиком в соотношении 10% (w/v)** в охлажденной среде выделения, содержащей **0,32M сахаразу и 4,5 mM 2-меркаптоэтанол**. Активность **ГАМК-Т** определяли **флуориметрически по методу (De Voeg Th., Bruinvels J., 1977)**, используя сопряженную ферментативную систему, в которой **ГАМК переаминируется в ЯПА**, окисляющийся затем в **сукцинат** в присутствии **НАД⁺ посредством ЯПА-ДГ**, находящейся в **гомогенате**. Активность **ГАМК-Т** и **ЯПА-ДГ** выражали в **нмоль НАДН/мг белка · ч**. Активность **ЯПА-ДГ** определяли по этому же методу, используя **ЯПА** в качестве субстрата.

Содержание белка в гомогенате измеряли по методу **Harlree E.e.a. (1972)**, используя **бичин альбумин** в качестве **стандарта**.

Результаты экспериментов подвергали статистической обработке методом **вариационной статистики (Рокицкий П.Ф., 1973)**.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

I. Активность ферментов деградации ГАМК при острой алкогольной интоксикации и коррекции эффектов этанола некоторыми нейротропными препаратами

В/б введение крысам этанола в дозе (**3,5 г/кг**) вызывало у них сон, сопровождающийся нарушениями двигательной активности и принятием большинством животных бокового положения. Анализ результатов нескольких независимых экспериментов показал, что через 45 мин после введения наркотической дозы этанола наблюдалось небольшое угнетение **ГАМК-Т** в **стволе и больших полушариях** и более выраженное угнетение **ЯПА-ДГ** в **стволе, мозжечке и базальных ганглиях** (Табл.1). В литературе отсутствуют данные о действии этанола на второй фермент деградации **ГАМК - ЯПА-ДГ** а

Таблица 1

Активность ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в структурах мозга крыс при действии вальпроата натрия (ВПН: 400 мг/кг, в/бр. 30 мин) и этанола (3,5 г/кг. в/бр. 45 мин)
(**мкмоль НАДН/ мг белка х ч.**; * - $p < 0.05$; $n=6$)

Группы	Ферменты	большие полумария	ствол	мозжечок	базальные ганглии
контроль	ГАМК-Т ЯПА-ДГ	0153±0053 0443±0072	0260±0025 0658±0048	0314±0017 0894±0012	0257±0021 069810,031
ВПН	ГАМК-Т ЯПА-ДГ	0222±0039 0387±0048	0332±0015* 0361±0029*	0239±0015* 0398±0025*	035310030* 0647±0046
этанол	ГАМК-Т ЯПА-ДГ	0149±0016 0310±0041	0252±0042 0287±0044*	027210,015 048810,078*	0,30910060 0,38510,064*
ВПН + этанол	ГАМК-Т ЯПА-ДГ	0151±0013 0438±0066	0240±0029 0531±0040	031810,029 0577±0042*	0,29810024 0749±0063

структурах мозга. **Вероятно**, угнетение этанолом ГАМК-Т и ЯПА-ДГ приводит к **накоплению нейромедиатора** в синаптической мели и нервном окончании и **служит** причиной усиления этанолом ГАМК-ергических тормозных процессов.

ВАЛЬПРОАТ НАТРИЯ (**н-дипропилацетат**, депакин) 1п **in vitro** достоверно ингибирует активность **ГАМК-Т** и **ЯПА-ДГ** в концентрациях **10 мМ** (на **322** и **56%**). В/бр введение ВПН (400 мг/кг. 30 мин) приводит к **угнетению** ЯПА-ДГ в стволе и **мозжечке**. ГАМК-Т в **мозжечке**, тогда как в стволе и **базальных ганглиях** активность ГАМК-Т была достоверно **выше** контроля (**Табл.1**). Введение ВПН через 15 мин после этанола купирует снотворное действие последнего. При этом не происходит **сложение ингибирующих** эффектов **препаратов**, а достигается возвращение активности ГАМК-Т и ЯПА-ДГ к контрольному **уровню** во всех изученных **структурах**, кроме **мозжечка**, где активность ЯПА-ДГ остается **ниже** контроля. **Вероятно**,

восстановление альпролатом активности ферментов происходит вследствие стабилизации митохондриальных мембран, которые ранее были модифицированы этанолом.

ЭТАНОЛАМИН *in vitro* дозозависимо ингибирует активность ГАМК-Т на 8%, 25% и 50% в ткани мозга крыс при концентрациях 1, 5 и 10 мМ и ЯПА-ДГ - на 17% и 21% (1 и 5 мМ) соответственно. В/бр введение ЗА (100 мг/кг, 30 мин) приводит к ингибированию ГАМК-Т в больших полушариях и стволе. При одновременном введении ЗА и этанола отмечается нейтрализация поведенческого эффекта этанола и возвращение активности ГАМК-Т и ЯПА-ДГ к контрольному уровню во всех изучаемых структурах.

ФОСФОЭТАНОЛАМИН *in vitro* ингибирует активность ЯПА-ДГ (1, 5, 10 мМ) на 382, 19% и 392, и ГАМК-Т (1 и 10 мМ) на 112 и 452 в ткани мозга. При в/бр введении фосфоЗА (230 мг/кг, 30 мин) наблюдается ингибирование активности ЯПА-ДГ в больших полушариях и стволе и ГАМК-Т - в стволе и мозжечке. Совместное введение фосфоЗА и этанола приводит к нормализации работы ферментов распада ГАМК в стволе, мозжечке и больших полушариях и устранению наркотического эффекта этанола. Сопоставление эффектов ЗА и фосфоЗА на фоне острой алкогольной интоксикации указывает на ряд общих черт их действия в различных структурах мозга.

При введении ГАММА-БУТИРОЛАКТОНА (250 мг/кг, в/бр, 45 мин) у крыс наблюдается снижение двигательной активности. В мозге отмечается угнетение активности ГАМК-Т в больших полушариях и мозжечке (на 19% и 202), тогда как активность ЯПА-ДГ ниже контроля только в мозжечке (на 36%). Введение этанола через 15 мин на фоне действия ГБЛ через 30 мин приводит к удлинению этанол-индуцированного сна. Активность ЯПА-ДГ при этом приближается к контрольному уровню в мозжечке и больших полушариях, тогда как в стволе и базальных ганглиях, то есть в структурах с доминирующим содержанием дофаминергических путей, такой нормализации не наблюдается. Активность ферментов метаболизма ГАМК ближе к контрольным значениям, чем при раздельном применении этих соединений за исключением сниженной активности в базальных ганглиях (на 232) и ГАМК-Т - в больших полушариях (на 192). Можно предположить, что в части структур мозга взаимодействие ГБЛ и этанола осуществляется на уровне ГАМК-системы мозга, тог-

да как в структурах с **высокой активностью дофаминергической системы, взаимоотношения** ГБЛ и этанола могут быть опосредованы ею.

Через 30 мин после введения **ГЛУТАМИНА (350 мг/кг, в/бр)** кри-сам наблюдается **снижение активности ГАМК-Т** в больших полушариях (на **35%**), а в **базальных ганглиях** - значительная активация **ЯПА-ДГ** (на **88%**). Совместное введение глутамин и этанола приводит к угнетению наркотического действия этанола. При этом сохраняется угнетение обоих ферментов распада ГАМК в больших полушариях (на **33% и 17%**), как и при действии одного этанола, угнетение ГАМК-Т в **стволце**, активация **ЯПА-ДГ** в **базальных ганглиях** (на **81%**), как и при действии одного глутамин. Вероятно, эффекты взаимодействия глутамин и этанола в значительной мере связаны с влиянием глутамин на различные этапы метаболизма аминокислот и образования энергии в мозге помимо воздействия на метаболизм ГАМК.

2. Состояние системы ГАМК при развитии толерантности к наркотическому действию этанола

Известно, что продолжительное воздействие этанола может приводить к развитию толерантности, которая проявляется в снижении чувствительности организма к фармакологическим и токсическим эффектам этанола при его повторных инъекциях (Табаког В., 1979; Сытоский И.А., 1980). Нами установлено, что ежедневные инъекции крысам наркотической дозы этанола в течение 10 дней приводят к постепенному снижению продолжительности этанолового сна. Изучение динамики активности ферментов окислительного метаболизма ГАМК выявило отчетливую тенденцию к развитию устойчивости ферментов к многократным дозам этанола (Рис.1-2). Через 2 часа после первой инъекции (I гр. - декапитация животных проведена в момент пробуждения) отмечается достоверное падение активности как ГАМК-Т, так и ЯПА-ДГ во всех пяти структурах мозга. Нормализация ферментативной активности через 24 часа после I инъекции (II гр.) наблюдается только в отношении ГАМК-Т, в то время как активность ЯПА-ДГ остается ниже контроля во всех исследуемых структурах мозга, хотя менее угнетается этанолом по сравнению с I группой.

Четвертая кратная нагрузка этанолом сопровождается уменьшением продолжительности этанолового наркоза до 80-90 мин после IV

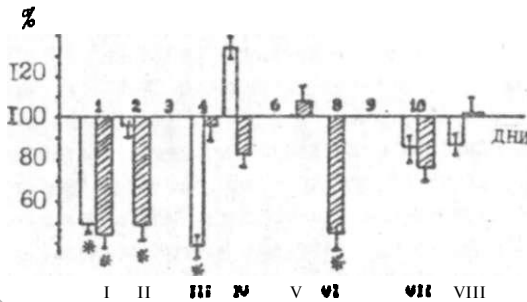


Рис. 1. Активность ГАМК-Т (□) и ЯПА-ДГ (▨) в больших полушариях мозга крыс при введении этанола ежедневно по 3.5г/кг, в/бр (I, III, V и VII группы - 1, 4, 7 и 10 инъекции этанола; II, IV, VI и VIII группы - 24 часа после последней инъекции: * - $p < 0.05$ по сравнению с контролем)

инъекции (III гр.). При этом отмечается падение активности ГАМК-Т во всех структурах мозга. Активность ЯПА-ДГ меняется менее значительно, по сравнению с I инъек. в стволе, где происходит увеличение активности фермента. Через сутки после введения IV инъекции (IV гр.) наблюдается возвращение активности ГАМК-Т к контрольному уровню и некоторое угнетение ЯПА-ДГ в мозечке и гиппокампе. При изучении изменений, произведших в V и VII группах (декапитация животных в момент пробуждения после VII и X инъекций этанола), отмечается последовательное уменьшение сдвигов активности обоих ферментов по мере увеличения количества инъекций этанола во всех изученных структурах мозга.

3. Ферменты деградации ГАМК в мозге при хроническом потреблении алкоголя, последующей его отмене и коррекции симптомов отмены некоторыми нейроактивными препаратами

Длительное потребление алкоголя животными вызывает у них выраженные изменения ГАМК-ергической системы мозга, которые особенно резко проявляются после отмены алкоголя (Ситинский И.А., 1980; Ticksu M.K., Kulkarni S.K., 1988).

В наших экспериментах потребление крысами растворов этанола в течение трех месяцев приводит к активации ГАМК-Т в стволе мозга (на 40%) и к угнетению ЯПА-ДГ в больших полушариях, ство-

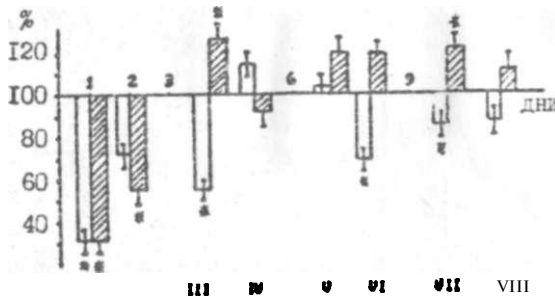


Рис. 2. Активность ГАМК-Т (■) и ЯПА-ДГ (□) в стволе мозга крис при введении этанола ежесуточно по 3.5 г/кг, в/бр (I, III, V и VII группы – 1, 4, 7 и 10 инъекции этанола; II, IV, VI и VIII группы – 24 часа после последней инъекции:
* - $p < 0.05$ по сравнению с контролем)

ле и мозжечке (на 352.492 и 19% соответственно) (Рис.3-4). Угнетение активности ЯПА-ДГ в трех структурах мозга, возможно, свидетельствует о нарушении соотношений в работе между ЯПА-ДГ и ЯПА редуктазой и об уменьшении поступления сукцината в ЦТК. Это может приводить к отмеченному в литературе угнетению основного энергетического обмена и ослаблению ГАМК-ергической передачи при хронической алкогольной интоксикации.

В течение 12 часов после отмены потребления алкоголя у крис развиваются признаки повышенной возбудимости и агрессивности, снимается судорожный порог в ответ на звуковые раздражители. Изучение биохимических показателей при данном сроке отмены выявило значительную активацию ЯПА-ДГ в стволе, мозжечке и базальных ганглиях на 42%, 46% и 26% соответственно, а также активацию ГАМК-Т в больших полушариях (на 48%) относительно группы животных, продолжавших получать этанол. При этом активность ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в большинстве изученных структур еще больше отличается от контрольного уровня, по сравнению с действием этанола. Это, по-видимому, свидетельствует об адаптации ферментов к длительному присутствию этанола и последующей их дезадаптации после его отмены. Наблюдающаяся при этом активация ЯПА-ДГ в трех структурах может способствовать включению компенсаторного чеханизма, заключающегося в активировании энергетического обмена

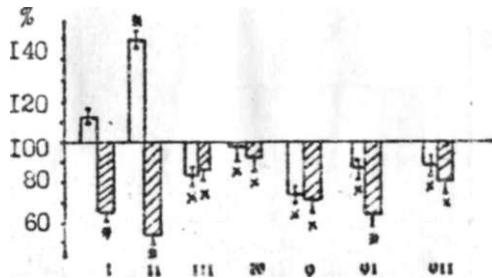


Рис.3. Активность ГАМК-Т (□) и ЯПД-ДГ (■) в различных полушариях мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации (I), отмене этанола (II) и коррекции отмены нейроактивными препаратами: (III-отмена + ВПН; IV-отмена + ЭА; V-отмена + фосфоЭА; VI-отмена + ГЛН; VII-отмена + глутамин; * - $p < 0.05$ сравнение с контролем; х - $p < 0.05$ сравнение с отменой) ткани мозга за счет поступления в ЦТК дополнительного сукцината.

Вальпроат натрия широко применяется в клинике для лечения судорожных состояний и некоторых неврологических синдромов (Raufreun H.Y.e.a., 1981; Брам Л., Драшманн В.Х., 1985). Он также подавляет патологическое влечение к алкоголю, снижает алкогольную абстиненцию и приводит к стабилизации ремиссии алкоголизма (Hillborn Y.e.a., 1989; Альтшулер В.Б., 1992).

Через 30 мин после введения крысам ВПН (400 мг/кг) на фоне отмены этанола отмечается тенденция к возвращению активности ГАМК-Т и ЯПА-ДГ к контрольному уровню, за исключением ствола мозга, где наблюдается достоверное угнетение ЯПА-ДГ по сравнению с интактным контролем и отменой. По-видимому, ВПН способствует перераспределению ГАМК между синаптическими пулами в пользу синаптического, что, по некоторым данным, служит причиной усиления проводимости в нейроне (Van der Laan J.W.e.a., 1981). Вариации в эффектах ВПН по структурам мозга могут определяться разницей в скорости оборота ГАМК в структурах мозга.

Приведение крысам этанола (100 мг/кг, 30 мин) на фоне отмены этанола приводит к достоверным сдвигам в активности ГАМК-Т и ЯПА-ДГ с тенденцией к возвращению к интактному контролю во всех четырех исследуемых структурах мозга. Фосфоэтаноламин 230

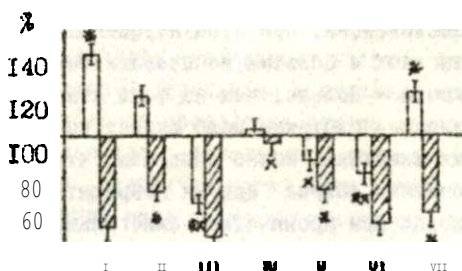


Рис. 4. активность ГАМК-Т (□) и ЯПА-дг (▨) в стволе мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации (I), отмене этанола (II) и коррекции отмены нейроактивными препаратами: (III - отмена + ВПН; IV - отмена + ЗА; V - отмена + фосфоЗА; VI - отмена + ГБЛ; VII - отмена + глутамин; * - $p < 0.05$ по сравнению с контролем; X - $p < 0.05$ по сравнению с отменой)

мг/кг. 30 мин) на фоне отмены этанола вызывает сходные с ЗА эффекты на систему ГАМК.

Сравнивая эффекты ВПН, ЗА и фосфоЗА, следует отметить исчезновение у крыс некоторых симптомов возбуждения ЦНС, которые наблюдаются при отмене алкоголя (напряжение мышц, повышенная агрессивность). Следовательно, ЗА и (в меньшей степени) фосфоЗА способствуют исчезновению поведенческих признаков абстиненции и ослаблению нарушений обмена ГАМК, развивавшихся при хронической алкогольной интоксикации и отмене этанола.

Введение на фоне отмены ГБЛ (250 мг/кг, 45 мин) сопровождается выраженным угнетением двигательной активности животных. При этом наблюдается уменьшение сдвигов активности ЯПА-ДГ и ГАМК-Т в больших полушариях и базальных ганглиях и усиление изменений их активности в стволе мозга и мозжечке. Вероятно, ГБЛ оказывает комплексное действие на систему ГАМК как на уровне некоторых ферментов ее обмена, так и через синаптические механизмы (Шевченко Н.В., 1983; Gessa G.L. et al., 1983).

Далее мы изучали влияние потребления ГЛУТАМИНА (0,75%) в течение 12 ч. после отмены этанола (примерно 250 мг/кг за данный промежуток времени). Обнаружено, что при потреблении глута-

мина **отсутствуют** поведенческие **симптомы**, характерные для состояния абстиненции. При **этом нарушения** метаболизма ГАМК в базальных ганглиях и больших полушариях были **меньше**, а в стволе мозга и **мозжечке** – **больше**, чем на фоне отмены. Так как в стволе мозга и **мозжечке** **глутамин** мало влияет на **ферменты** обмена ГАМК у **интактных животных**, можно **полагать**, что данные сдвиги обусловлены **нарушениями** обмена других **нейроактивных аминокислот**, которые происходят при хронической алкогольной интоксикации.

ВЫВОДЫ

1. В опытах *in vivo* зальпроат натрия, **этаноламин** и фосфоэтаноламин вызывают достоверное падение активности ГАМК-трансаминазы и **ЯПА-дегидрогеназы**, различающиеся по структурам мозга. **Гамма-бутиролактон** и глутамин приводят к изменениям в катаболизме ГАМК, опосредованным через другие метаболические пути и нейромедиаторные системы головного мозга.
2. Острое введение крысам этанола (3.5 г/кг. в/бр) сопровождается **преимущественным** угнетением активности ЯПА-дегидрогеназы и реже – **ГАМК-трансаминазы** в базальных **ганглиях**, стволе и мозжечке.
3. Введение зальпроата натрия, этаноламина, **фосфоэтанолamina** на **фоне** острой алкогольной интоксикации способствует уменьшению влияния этанола на активность ГАМК-трансаминазы и **ЯПА-дегидрогеназы**, что, **вероятно**, может быть причиной ослабления **этанол-индуцированных** нарушений двигательных реакций.
4. По мере увеличения числа инъекций этанола в течение **10** суток наблюдается постепенное сокращение длительности этанол-индуцированного сна и одновременное уменьшение изменений активности ферментов деградации ГАМК в **больших полушариях**, **стволe**, мозжечке и базальных ганглиях. Это указывает на участие ГАМК-ергической системы мозга в развитии толерантности организма к **снотворным** эффектам алкоголя.
5. Хроническое потребление крысами раствора этанола способствует угнетению окислительного пути метаболизма ГАМК в **большинстве** изученных структур мозга. В течение 12 часов после отмены этанола нарушения метаболизма ГАМК **усиливаются**, что может быть одним из факторов развития гипервозбуждения нерв-

ной системы при абстиненции.

6. Изученные нейроактивные препараты - вальпроат натрия, этаноламин, фосфозтаноламин, гамма-бутиролактон и глутамин приводят к устранению поведенческих проявлений отмены этанола и способствуют (особенно вальпроат, этаноламин и фосфозтаноламин) коррекции нарушений окислительного пути метаболизма ГАМК в мозге крыс, возникших вследствие хронической алкогольной интоксикации.
7. Полученные данные свидетельствуют о выраженном воздействии алкоголя на метаболизм ГАМК в мозге и о необходимости дальнейшего поиска новых фармакологических препаратов, влияющих на обмен ГАМК, для лечения алкогольной интоксикации и снятия явлений абстиненции.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Виницкая А.Г. Влияние вальпроата натрия и этанола на окислительный метаболизм ГАМК в структурах мозга крыс // Тез. докл. VII Обл. конф. мол. ученых и спец. - Гродно, 1991. - С. 41.
2. Виницкая А.Г. Сравнительная активность ферментов метаболизма ГАМК в структурах мозга крыс генетических линий с различным потреблением этанола и отношением к нему // Там же. - С. 42.
3. Виницкая А.Г. Супраэтаноловое действие этаноламин и ферменты системы ГАМК // Тез. докл. VIII Обл. конф. мол. ученых и спец. - Гродно, 1993. - С. 21.
4. Виницкая А.Г., Канунникова Н.П., Быков И.П. Влияние аминокислотных смесей на ферменты деградации ГАМК в мозге при отмене этанола // Тез. докл. Междунар. науч. конф., посвящ. 35-летию откр. ГИИ. - Гродно, 1993. - С. 307-309.
5. Канунникова Н.П., Виницкая А.Г., Дарашенка Я.М., Малавин А.Г. Углия этанолу і біккуліну на колькасць свабодных амінакіслот і актынасць ГАМК-метабалізмных ферментаў у структурах мозгу пацукіў // Весті АН Беларусі. Сер. біял. н. - 1993. - № 1. - Г. 90-95.
6. Канунникова Н.П., Виницкая А.Г., Чумаченко С.С. Метаболизм ГАМК в структурах мозга крыс при развитии толерантности к наркотическому действию этанола // Тез. докл. Междунар. науч. конф., посвящ. 35-летию откр. ГИИ. - Гродно, 1993. - С. 323-324.

АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ И ФЕРМЕНТЫ МЕТАБОЛИЗМА ГАМК В МОЗГЕ ПРИ
ДЕЙСТВИИ НЕЙРОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Ключевые слова: **этанол, γ -аминомасляная кислота (ГАМК), ГАМК-аминотрансфераза (ГАМК-Т), янтарный полуальдегид (ЯПА), ЯПА-дегидрогеназа (ЯПА-ДГ), вальпроат натрия, этаноламин, фосфоэтаноланин, γ -бутиролактон, глутамин.**

В данной работе исследовали активность ферментов катаболизма ГАМК - ГАМК-Т и ЯПА-ДГ при острой и хронической алкогольной **интоксикации**, отмене потребления этанола и развитии толерантности к **наркотическому** действию этанола у крыс. **Указанные** параметры были измерены в **больших полушариях, стволе, мозжечке** и базальных ганглиях (**БГ**) мозга крыс. **Установлено**, что при однократном введении наркотической дозы этанола (3.5 г/кг. **в/бр**) **наблюдается** угнетение преимущественно активности ЯПА-ДГ в **стволе, мозжечке и БГ**. 10-дневное введение крысам этанола сопровождается сокращением длительности этанолового сна и пропорциональным ослаблением вызванных этанолом изменений активности ЯПА-ДГ и ГАМК-Т во всех изученных структурах мозга. Длительное потребление **животными** растворов этанола приводит к угнетению окислительной деградации ГАМК в большинстве изученных структур. Лишение **животных** этанола уже через 12 часов усиливает изменения в метаболизме аминокислоты. Вальпроат **натрия, этаноламин, фосфоэтаноланин, гамма-бутиролактон и глутамин**, в разной степени, **устраняют поведенческие эффекты** как острой алкогольной **интоксикации**, так и отмены **этанола**, а **также** нормализуют работу ГАМК-Т и ЯПА-ДГ в структурах, нарушенную вследствие алкогольной **интоксикации**.

Полученные нами данные **свидетельствуют** о влиянии алкоголя на окислительный путь метаболизма ГАМК в мозге и о необходимости поиска новых фармакологических **препаратов, влияющих** на обмен ГАМК. для лечения алкогольной интоксикации и **состояния** абстиненции. Результаты работы имеют существенное значение для выяснения биологических аспектов алкоголизма. Область их приме-

нення - біохімія, фармакологія, наркологія.

Р а з і К а

Вініцкая Г.Г.

АЛКАГОЛЬНАЯ ІНТАКСІКАЦЫЯ І ФЕРМЕНТЫ МЕТАБАЛІЗМУ ГІМК У МОЗГУ ПРЫ ДЗЕЯННІ НЕПРААКТЫВНЫХ ЗЛУЧЭННЯУ

Ключавыя словы: этанол, γ -амінамасляная кіслата (ГАМК), ГІМК амінатрансфераза (ГІМК-Т), бурштынавы пауальдэгід (БПІ), БПА-дэгідрагеназа (БПА-ДГ), вальпраат натрыю, этаноламін, фосфэтаналамін, γ -буціралактон, глутамін.

У дадзенай працы вывучалі актыўнасць ферментаў катабалізму ГАМК - ГІМК-Т і БПА-ДГ пад уплывам вострай і хранічнай алкагольнай інтаксікацыі, адмены этанолу і развіцця талерантнасці да снатворнага дзеяння этанолу у пацукоў. Дадзеныя паказчыкі вымяраліся ў вялікіх паўшар'ях, ствале, мазачку і базальных гангліях (БГ) мозгу пацукоў. Вызначана, што пасля аднаразавага увядзення снатворнай дозы этанолу (3,5 г/кг. у/бр) наглядаецца прыгнечанне пераважна актыўнасці БПА-ДГ у ствале, мазачку і БГ. 10-дзённае увядзенне пацукам этанолу суправаджаецца скарачэннем працягласці этанолавага сну і прапарцыянальным змяншэннем выкліканых этанолам змяненняў актыўнасці БПА-ДГ і ГІМК-Т ва ўсіх вывучаных структурах мозгу. Працяглае спажыванне жывелінамі раствораў этанолу вядзе да прыгнечання акісляльнай дэградацыі ГІМК у большасці вывучаных структур. Пазбаўленне вывел этанолу ўжо праз 12 гадзін павялічвае змяненні ў метабалізме амінакіслот. Вальпраат натрыю, этаноламін, фосфэтаналамін, γ -буціралактон і глутамін у рознай ступені ўстараняюць паводзіныя эфекты этанолу, а таксама нармалізуюць працу ГІМК-Т і БПІ-ДГ у структурах мозгу, парушаную пад уздзеяннем алкагольнай інтаксікацыі.

Атрыманая намі дадзеныя сведчаць аб уздзеянні алкаголю на акісляльны шлях метабалізму ГІМК у мозгу і аб неабходнасці пошуку новых фармакалагічных сродкаў, уплывавчых на абмен ГІМК, для лячэння алкагольнай інтаксікацыі і стану абстыненцыі. Вынікі працы маюць вялікае значэнне для высвятлення біялагічных

аспектау алкагалізму. Вобласць їх примянення - біяхімія, фармакалогія, наркологія.

с "М и й К V

A.G. Uunitskay

Alcohol Intoxication and Enzymes of GABA Metabolism in Brain during the Action of Some Neuroactive Drugs

Key words: ethanol, γ -aminobutyric acid (6ЙВЙ). GABA-transaminase (6ЙВЙ-Т). succinic semialdehyde (6ЙЙ). succinic semialdehyde dehydrogenase (6ЙВЙ-Т), sodium valproate, ethanolamine, phosphoethanolamine, γ -butyrolactone, glutamine.

In this thesis, the activities of GABA catabolizing enzymes - GABA-T and SSA-DH have been studied in acute and chronic alcohol intoxication, withdrawal (АН), and development of tolerance to the hypnotic action of ethanol in rats. The indices were measured in the hemispheres, brain stem, cerebellum and basal ganglia (86) of the rat brain. After a single injection of the hypnotic dose of alcohol (3.5 g/kg, i.p.) reduced activity of SSA-DH mainly was shown in the brain stem, cerebellum and BC. 10-Day exposure to ethanol of rats was followed by shortening of duration of ethanol induced sleep and proportional attenuation of ethanol-induced enzymes changes in all the brain structures examined. During 3-month ethanol solutions consumption the attenuation of oxidative GABA degradation was shown in the majority of the brain structures studied. Alcohol withdrawal enhanced the changes in amino acid metabolism as early as after 12 hours. Sodium valproate, ethanolamine, phosphoethanolamine, γ -butyrolactone and glutamine eliminated to a various extent the behavioral effects both after acute alcohol intoxication and AN. They also normalized the GABA-T and SSA-DH activities in the brain structures which were disturbed by alcohol intoxication.

All the data obtained show the alcohol action on the oxidative way of brain GABA metabolism and necessitate a search for new drugs influenced the GABA metabolism to treat alcohol

intoxication and AW. The results was shown play an important role in the examining of alcoholism's biological aspects. Their application belongs to the field of biochemistry, pharmacology and narcology.

Подписано к печати 31.10.94 г. Заказ 240.

бумага офсетная 60 x 84. 1/16.

I у. п. л. Тираж 100 экз.

Ротапринтный участок Гродненского государственного медицинско-го института. г. Гродно, ул. Горького, 80